

Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Wydział Chemii
Katedra Chemii Fizycznej i Fizykochemii Polimerów
ul. Gagarina 7, 87-100 Toruń

dr hab. Ewa Olewnik-Kruszkowska, prof. UMK
olewnik@umk.pl



Toruń, 23 listopada 2023 r.

Recenzja
rozprawy doktorskiej mgr Izabeli Domańskiej
zatytułowanej
„Sterylizacja radiacyjna implantacyjnych postaci leków przeciwnowotworowych”

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska mgr Izabeli Domańskiej została wykonana w Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej i Biomateriałów Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Opiekę nad realizacją badań sprawowało dwóch promotorów, prof. dr hab. inż. Marcin Sobczak i dr hab. Krystyna Cieśla, prof. Instytutu Chemii i Techniki Jądrowej w Warszawie. Należy również podkreślić, iż praca została zrealizowana w ramach projektu współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego Programu Operacyjnego Wiedza-Edukacja-Rozwój 2014-2020 zatytułowanego *Radiofarmaceutyki dla ukierunkowanej molekularnie diagnostyki i terapii medycznej*.

Wybór tematyki pracy: Poszukiwanie nowych rozwiązań mających na celu poprawę skuteczności leczenia chorób nowotworowych stanowi priorytet i ciągłe wyzwanie dla naukowców. Do grupy skutecznych metod dostarczania leku należą systemy terapeutyczne o kontrolowanym uwalnianiu substancji leczniczej. Są one szczególnie obiecujące w przypadku konieczności dostarczenia substancji trudnorozpuszczalnych, wrażliwych na pH czy wymagających specjalnego dozowania. Z powyższych względów uwaga świata medycznego skupiona jest między innymi na opracowaniu nośników odznaczających się precyzyjnym transportem substancji leczniczej, co jednocześnie zmniejsza skutki uboczne terapii, również terapii przeciwnowotworowej. Przygotowanie takich systemów wymaga przeprowadzenia etapu sterylizacji, co stanowi dodatkowy istotny punkt na drodze do zaprojektowania układów spełniających standardy określone w treści Farmakopei Europejskiej. Mając na uwadze powyższe, należy jednoznacznie podkreślić, iż przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska wpisuje się we współczesne i innowacyjne badania naukowe, a jednocześnie posiada istotne znaczenie poznawcze i aplikacyjne.

Cel rozprawy: Tytuł rozprawy wskazuje, że jej celem było przeprowadzenie kompleksowych badań wpływu promieniowania jonizującego na strukturę i właściwości fizykochemiczne nośników dla substancji leczniczej o nazwie paklitaksel. Tymczasem zarówno założenia, cel, jak również zasygnalizowane etapy realizacji pracy doktorskiej wskazują, że zakres ten został znacząco poszerzony, tzn. obejmował optymalizację procesu syntezy biodegradowalnych matryc polimerowych, analizę ich struktury, właściwości fizykochemicznych, a także cyto- i genotoksyczności. Ocenie została również poddana skuteczność formowania nośników zawierających wspomniany wyżej lek przeciwnowotworowy, co dowodzi kompleksowego podejścia do rozwiązania naukowego problemu.

Ocena merytoryczna rozprawy: Główny trzon rozprawy doktorskiej mgr Izabeli Domańskiej stanowi cykl czterech artykułów naukowych w języku angielskim opublikowanych w następujących czasopismach o zasięgu międzynarodowym: *International Journal of Pharmaceutics* (IF=5,875), *Molecules* (IF=4,600), *Journal of Drug Delivery Science and Technology* (IF=5,000) oraz *Applied Sciences* (IF=2,700). Cykl prac został opatrzone wyczerpującym komentarzem z uwzględnieniem zakresu i celu pracy oraz aktywności naukowej Doktorantki. Na ostatnich stronach zostały zamieszczone oświadczenia wszystkich autorów zaprezentowanego cyklu publikacji. We wszystkich wymienionych pracach pani mgr Izabela Domańska jest pierwszym autorem. Ponadto załączone oświadczenia współautorów publikacji, jak również samej Doktorantki, jednoznacznie wskazują na jej istotny udział i dominującą rolę w procesie przygotowania opublikowanych manuskryptów.

Wprowadzenie do cyklu opublikowanych prac zostało przygotowane bardzo starannie. Poszczególne rozdziały dobrze uzasadniają podejmowane działania opisane w publikacjach wchodzących w skład rozprawy. W tej części pracy Doktorantka nie ominęła żadnego istotnego aspektu, skutecznie unikając ewentualnych wątpliwości, które mogłyby utrudnić wprowadzenie czytelnika w zagadnienia związane z przeprowadzanymi i opisanymi badaniami. Autorka szczegółowo omówiła substancję leczniczą – paklitaksel, jej budowę, właściwości, działanie przeciwnowotworowe, a także zasygnalizowała obiecujące kierunki badań nad systemami, które mogłyby pozwolić na kontrolowane uwalnianie wspomnianej substancji. W ten sposób Doktorantka płynnie przeszła do omówienia poliestrowych nośników, wskazując na metody otrzymywania oraz zalety wynikające z ich stosowania. Kolejny fragment wprowadzenia został poświęcony sterylizacji produktów leczniczych. Mgr

Izabela Domańska w tej części dysertacji scharakteryzowała różne techniki sterylizacji, ze szczególnym uwzględnieniem promieniowania jonizujące zarówno gamma, jak i wiązki elektronów. Wskazała również na zalety sterylizacji końcowej i przewagę metod radiacyjnych nad sterylizacją termiczną. Na uwagę zasługuje fakt, iż Doktorantka nie pozostała bezkrytyczna w stosunku do skutków ubocznych wywołanych działaniem promieniowania jonizacyjnego. Wskazała, iż należy mieć na uwadze, że promieniowanie jonizujące może powodować zmiany strukturalne poprzez sieciowanie lub degradację matryc polimerowych. Podkreśliła tym samym wagę szczegółowych badań przeprowadzonych pod kątem wpływu promieniowania jonizującego w odniesieniu do ewentualnych zmian strukturalnych nośnika oraz samej substancji aktywnej.

Kolejne fragmenty, w których zestawiono wyniki własne, dyskusję oraz wnioski stanowią pewnego rodzaju esencję dysertacji, po której zamieszczono poszczególne prace związane z tematem rozprawy. W pracy oznaczonej jako **P1** Doktorantka przeprowadziła szeroki przegląd literatury poświęcony najpopularniejszym i najskuteczniejszym technikom stosowanym w sterylizacji. Omówiła wpływ procesu sterylizacji radiacyjnej na właściwości fizykochemiczne i strukturę tych polimerów, które mogą mieć zastosowanie w systemach dostarczania różnych substancji czynnych. Na uznanie zasługuje fakt, że w powyższej pracy została również poddana krytycznej ocenie stabilność wybranych substancji leczniczych podczas procesu sterylizacji, z uwzględnieniem wykorzystanego w dalszych działaniach związku o nazwie paklitaksel. Przegląd literatury pozwolił Autorce ustalić, że proces sterylizacji radiacyjnej może być wykonywany z wykorzystaniem promieniowania γ lub wiązki elektronów, a substancja czynna (wspomniany paklitaksel (PTX)) jest odporna na działanie promieniowania γ z użyciem dawki 25 kGy. Mając na uwadze, iż niewiele publikacji nawiązuje do wpływu promieniowania jonizującego na polimerowe systemy terapeutyczne w postaci mikro- czy nanocząstek o kontrolowanym uwalnianiu PTX, Doktorantka uznała za celowe kontynuowanie badań w tej tematyce, zwłaszcza, że procesy te decydują nie tylko o stopniu sterylizacji, ale również wpływają na zmiany struktury napromienianych polimerów.

Szczególnie ważną pracą dla dalszych działań jest publikacja **P2**, w której Autorka skupiła się na optymalizacji procesu syntezy matryc polimerowych wykorzystując biozgodny katalizator - oktanian bizmutu. Podkreślić należy, że w celu przeprowadzenia wspomnianie syntezy, Doktorantka wykonała przegląd dostępnej literatury, dotyczącej katalizatorów wykorzystywanych w reakcja polimeryzacji z otwarciem pierścienia. W trakcie optymalizacji

procesu pod uwagę brane były takie czynniki jak czas, temperatura reakcji oraz ilość użytego katalizatora. Otrzymane materiały poddano następnie analizom mającym na celu scharakteryzowanie ich struktury, właściwości fizykochemicznych, jak również aktywności biologicznej. Wykorzystano szereg technik takich jak ^1H i ^{13}C NMR, GPC, TGA, DSC, a także przeprowadzono badania cyto- i genotoksyczności. Zarówno zaprojektowanie eksperymentu, jak również poprawność interpretacji otrzymanych danych nie budzą żadnych wątpliwości. Ponadto na uznanie zasługuje wiedza Doktorantki oraz nacechowane dojrzałością naukową omówienie widm, uzyskanych z wykorzystaniem techniki NMR.

Publikacja **P3** dowodzi, iż Doktorantka sprawnie przeprowadziła formowanie nanocząstek biopolimerowych zawierających paklitaxel. Podobnie jak w pracy P2, podjęła się rozbudowanej analizy ich struktury, a także efektywności procesu kapsułkowania i uwalniania składnika leczniczego. W tej części pracy Doktorantka wykonała kompleksowe badania zmian zachodzących w strukturze i właściwościach badanych materiałów pod wpływem wiązki elektronów i promieniowania γ . Poszła także o krok dalej analizując wpływ zastosowanej sterylizacji na degradację hydrolityczną biopolimerów.

W ostatniej pracy z cyklu, oznaczonej jako **P4**, Autorka podjęła wysiłek naukowy obejmujący zbadanie kolejnego materiału biodegradowalnego na bazie kopolimeru L-laktydu i glikolidu. W ten sposób poszerzyła zbiór otrzymywanych nanocząstek zawierających paklitaxel, analizowanych zarówno przed jak i po procesie sterylizacji.

Przeprowadzone badania i opublikowane prace pozwoliły Doktorantce na sformułowanie spójnych wniosków końcowych, które poprawnie i jednoznacznie wskazują, że oktanian bizmutu umożliwia otrzymanie nietoksycznych biopolimerów o założonej średniej masie molowej, niskim współczynniku dyspersyjności i strukturze statystycznej. Wykorzystana metoda formowania systemów terapeutycznych zawierających paklitaxel okazała się skuteczna, a otrzymane nośniki są w stanie zapewnić długotrwałe i kontrolowane uwalnianie. Ponadto, jak słusznie zostało zauważone, rodzaj matrycy polimerowej wpływa na kinetykę uwalniania substancji leczniczej.

Co istotne, analiza fizykochemiczna i strukturalna wykazała, że badane poliestrowe nośniki substancji leczniczej były bardziej odporne na promieniowanie jonizujące w postaci wiązki elektronów. Poszukiwanie nowych rozwiązań w zakresie sterylizacji poliestrowych nośników substancji leczniczych pozwoliło na stwierdzenie, że korzystniejszym jest wykorzystanie w tym celu wiązki elektronów niż promieniowania γ .

Podsumowanie: Mając na uwadze fakt, że dysertacja opiera się na pracach ocenianych już przez innych recenzentów trudno doszukać się w nich jakichkolwiek niedociągnięć lub uchybień. Jednakże, po zapoznaniu się z rozprawą chciałabym prosić o rozwinięcie i przedyskutowanie podczas obrony rozprawy doktorskiej następujących kwestii, które w pełniejszy sposób pozwolą na zrozumienie podejmowanych badań:

- W pracy P3 opisano analizy wykonane za pomocą techniki MALDI-TOF-MS. Jednakże w publikacji nie pokazano żadnego widma otrzymanego tą metodą. Proszę zaprezentować widmo dla wybranego badanego materiału i omówić, w jaki sposób przeprowadzono interpretację wyników.

- W celu oceny temperatury zeszklenia w publikacjach wykorzystano równanie Fox'a. Proszę wskazać dla jakich materiałów może być stosowane wspomniane równanie i jakie są jego ograniczenia.

- Proszę wyjaśnić czy rysunek 1 (str. 13) został zaczerpnięty z literatury czy został przygotowany samodzielnie? Jeśli zaczerpnięty z innej pracy, to dlaczego nie ma wskazanej cytacji, a jeśli wykonany samodzielnie, to dlaczego jest zaprezentowany w języku angielskim w sytuacji gdy tekst wstępu dysertacji został zredagowany w języku polskim?

Wnioski końcowe: Reasumując, pani mgr Izabela Domańska kompleksowo zrealizowała założone cele obejmujące otrzymanie nowych matryc polimerowych, formowanie nośników dla przeciwnowotworowej substancji leczniczej oraz ustaliła czy i jaki sposób promieniowanie jonizujące wpływa na stabilność otrzymanych materiałów.

Przeprowadzenie szeregu syntez, badań strukturalnych, fizykochemicznych, analitycznych i farmaceutycznych, a także interpretacja wyników wskazują na szeroką wiedzę Doktorantki i jednocześnie dowodzą, że mgr Izabela Domańska bardzo dobrze opanowała procedury eksperymentalne.

Ponadto, warto ponownie podkreślić wiodącą rolę Doktorantki w przygotowaniu cyklu publikacji zamieszczonych w dysertacji. Jej znaczący udział został zaznaczony zarówno w przygotowaniu koncepcji, planowaniu eksperymentów, wykonaniu badań i analizie otrzymanych wyników, jak również w przygotowaniu manuskryptów.

Mając na uwadze powyższe, pozwalam sobie na jednoznaczne stwierdzenie, że rozprawa doktorska mgr Izabeli Domańskiej pt. *„Sterylizacja radiacyjna implantacyjnych postaci leków przeciwnowotworowych”* stanowi oryginalne i wartościowe opracowanie naukowe, które z całą pewnością spełnia wymagania określone w ustawie z dnia 20 lipca

2018 r. - "Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce" i jednocześnie wnioskuję o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto, biorąc pod uwagę zaawansowanie metod badawczych, jakość opublikowanych prac oraz aplikacyjny charakter przeprowadzonych badań wnoszę o wyróżnienie przedstawionej mi do recenzji dysertacji.

dr hab. Ewa Olewnik-Kruszkowska, prof. UMK